



特 許 願



① 日本国特許庁

公開特許公報

昭和50年2月28日

特許庁長官 斎藤英雄 殿



1. 発明の名称

マルトースの製造法

2. 発明者

三重県三重郡楠町吉崎123番地

森 木 聡 博 (外二名)

3. 特許出願人

三重県四日市市末広町17番40号

東海糖業株式会社

代表者 川 村 保

4. 同代理人

東京都港区芝虎ノ門15, 虎ノ門ビル505号

(8217) 久 高 将 信

①特開昭 51-101141

④公開日 昭51.(1976) 9. 7

②特願昭 50-24446

②出願日 昭50.(1975) 2. 28

審査請求 未請求 (全4頁)

庁内整理番号

6P77 4P

6P77 4P

⑤日本分類

32 B222

32 B0

⑤Int.Cl.

C13K 7/00

C12D 13/02

明 細 書

1. 発明の名称

マルトースの製造法

2. 特許請求の範囲

(1) 澱粉を糊化または部分加水分解した後、 β -アミラーゼまたは β -アミラーゼと α -アミラーゼとを用いて糖化し、更にこの糖化液を加圧状態下に膜透過処理することによつて、該糖化液中に残留するオリゴ糖および/またはデキストリンを分画除去することを特徴とする高純度のマルトースの製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、澱粉を糊化するかまたは部分加水分解した後、これに β -アミラーゼまたは β -アミラーゼと α -アミラーゼとを添加して糖化し、更にこの糖化液を加圧状態下に膜透過処理して、糖化液中に残留するオリゴ糖および/またはデキストリンを分画除去することによつて、高純度のマ

ルトースを収率良く取得するマルトースの製造法に関する。

古くから行なわれているマルトースの製造法は、澱粉を麦芽のアミラーゼで加水分解してグルコース、デキストリンと共にマルトースを生成させるものであるが、このような麦芽のみを使用する方法ではマルトースの生成量が高々固形分中約65%程度の糖化液しか得られない。

そこで、更に純度の高いマルトースを製造する方法として、澱粉中の α -1,6-グルコシド結合に特異的に作用する α -1,6-グルコシダーゼすなわち別名イソアミラーゼ(丸尾文治, 小林恒夫: 農化誌, 23, 115, 120)またはブルナーゼ(H. Bender & K. Wallenfels: Biochem. Zeit. 334, 79)と β -アミラーゼとを併用する方法が報告されている(特公昭46-37849号, 特公昭47-13089号各公報)。

元来、 β -アミラーゼは澱粉を構成するグルコ

ース鎖の非還元性末端から順次マルトースを分離させる反応を触媒する酵素で（赤堀四郎鑑修：酵素ハンドブック、456頁）、これは α -1,4-グルコシド結合には作用しても α -1,6-グルコシド結合は分解できないため、グルコース鎖の分枝点付近で作用が停止し多量の未分解物を残す結果、マルトース含有量の低い糖化液しか得られないのである。これに対し、 α -1,6-グルコシダーゼを併用した前記二方法は、澱粉中の分枝点を切断して β -アミラーゼによる分解率を高めマルトース純度の高い糖化液を得ることを目的とした方法であるが、しかし一方、 α -1,6-グルコシダーゼを併用することなく、 β -アミラーゼのみを作用させて糖化した場合でも、糖化液中に残留するオリゴ糖またはデキストリンを効率的に除去し得るならば、高純度のマルトースを製造できることが期待される。

本発明者らはこのように β -アミラーゼのみを

作用させて得た糖化液から残留する未分解物を除去して高純度のマルトースを製造する方法について研究を行つたところ、糖化液に加圧状態下に膜透過処理を施すときは、未分解物とマルトースとが極めて効率的にしかも確実に分別されて高純度のマルトースが得られる事を見出した。

本発明はこの知見に基づくもので、澱粉を糖化するかまたは澱あるいは酵素で軽く部分加水分解した後、 β -アミラーゼまたは β -アミラーゼと α -アミラーゼとを作用させて糖化し、更にこの糖化液を加圧状態下に膜透過処理することによつて、糖化液中に残留するデキストリン等を分画除去して高純度のマルトースを製造する方法である。

本発明における膜透過処理とは透過膜を加圧状態で使用する分子分別法であつて、通常限外濾過法と逆浸透法とに大別されるが、両者に本質的な差異はなく、限外濾過法が比較的大きな分子量を有する物質相互の分画を目的としているのに対し

て、逆浸透法は比較的小さな分子量を有する物質相互の分離に応用される分別法であつて、両者の間の境界もまた明瞭ではない。

本発明において使用する透過膜について、本発明者らは膜のマルトースと澱粉の未分解物との分画性能を各種の分画分子量値を有する膜を用いて試験した。試験方法は、10%溶性澱粉を加熱糖化したものに大豆から抽出した β -アミラーゼを澱粉1g当たり2単位添加し、pH5.5、温度55℃の条件下に35時間保持して酵素反応を行なわせた。反応終了液を一度加熱した後、濾過した（固形分中マルトース含量55.9%）。一方、各種の分画分子量値を有する限外濾過膜（バイオエンジニアリング製）を装着した限外濾過器（バイオエンジニアリング製）を準備し、これに上記の糖化液を供給して4 kg/cm²の圧力下に室温で透過させた。得られた透過液のマルトース純度を測定した結果はオ1表のとおりであつた。

オ 1 表

膜の分画分子量値	透過液のマルトース純度
500	99.9%
1,000	99.9%
5,000	99.2%
10,000	93.7%

オ1表の結果から分るように、95%以上の極めて高純度のマルトースを得るには、 β -アミラーゼを用いて糖化した後、分画分子量値5,000以下の透過膜で処理するのが適当であり、この分画分子量値以上の膜で処理した場合には透過液にヨード反応が出現するようになる。このような膜処理を工業的に実施する場合には、分画分子量値の大きな膜処理で一たん粗分画した後、分画分子量値5,000以下の膜で本分画を行なえば効率的な分別が可能となる。

また、澱粉からのマルトース収量の増加を計り、純度80~95%のマルトースを得る場合には、

1行、
2字挿入

2字抹消

β -アミラーゼに α -アミラーゼを併用して糖化した後、分画分子量値5,000以下の透過膜で処理するのが適当である。この際併用する α -アミラーゼの使用量は反応条件によつて異なるが、通常の β -アミラーゼの作用pH5~7, 作用温度50~70℃の範囲において、20単位/澱粉 φ 以下であり、反応時間は50時間以内である。

尚上記において、 β -アミラーゼの測定は次のように行なつた。すなわち、2%溶性澱粉液(酢酸緩衝液pH4.8, 0.02Mを含む)20mlに適量の水と酵素液とを加えて30mlとし、30℃に10分間保つた後、この反応液3mlを予め試験管中に用意した0.05Nの $K_3Fe(CN)_6$ 溶液(Na_2CO_3 を0.2Mになるように加えたもの)10mlに加え、沸騰水中で20分間加熱する。次にこれを流水で5分間冷却した後、これにKCl 70 φ , $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 20 φ および氷酢酸を200mlの水にとかして全容を1Lとした混液25mlを加え、更にこれに0.5 φ

を1単位とした。

次に本発明を更に実施例をもつて詳細に説明する。

実施例 1

10%のコーンスターチ懸濁液1,000 φ を消石灰乳でpH6.5に調整し、これに液化酵素(大和化成製)0.04 φ を加えて、90℃で30分間液化した後、120℃で10分間オートクレーブで加熱した。次に、この液化液に大豆より抽出した β -アミラーゼを澱粉 φ 当り2単位と、 α -アミラーゼ(大和化成製)を澱粉 φ 当り3単位添加して、pH5.7, 温度55℃の条件下に30時間保持して糖化した。糖化液は一度加熱した後、濾過した。

一方、分画分子量値1,000の限外濾過膜(バイオエンジニアリング製)を装着した限外濾過器(バイオエンジニアリング製)を準備し、これに上記糖化液を供給した後、4 kg/cm² Gの加圧状態



特開昭51-101141(3)

のKIを添加して遊離する I_2 を0.05Nの $Na_2S_2O_3$ で滴定し、ブランクとの差をとつた。上記の条件で30mlの反応液中に $K_3Fe(CN)_6$ の1 φ 当量に相当する還元糖を生ずる酵素量を1単位とした。

α -アミラーゼの力価測定は、馬鈴薯澱粉100 φ (無水物として)にpH6.0の0.1N酢酸緩衝液100mlおよび蒸留水を加えて全容を1,000mlとした澱粉懸濁液を用意し、これを澱粉が均一に分散するように激しく攪拌しながら数本の試験管に10mlずつとり、それらに各種濃度の酵素液1mlを加えた。これらの試験管を澱粉が均一になるように激しく振りながら沸騰水中で加熱して糊化させ、直ちに65℃の恒温槽に移して1.5分間保つた後、試験管を沸騰水中に10分間入れて酵素を失活させ、続いてこれを17℃の水中で3分間冷却した後、0.1%フクシン液1mlを加えて管口部を塞ぎ、試験管を2回転倒して内容液が曇りなく一様に着色した試験管中最小濃度の酵素液の活性



下に室温で処理してオリゴ糖およびデキストリンを分別除去した。これによつてマルトース溶液(固形分濃度9.8%, 固形分中マルトース87.3%)650 φ を得た。尚上記においてマルトースの定量はガスクロマトグラフィー法によつて行なつた(以下の実施例においても同様である)。

実施例 2

5%甘薯澱粉懸濁液1,000 φ を120℃で10分間オートクレーブで加熱し、これに大豆より抽出した β -アミラーゼを澱粉 φ 当り2単位添加して、pH5.5, 温度60℃の条件下に40時間保持して糖化した。糖化終了液は一度加熱した後、濾過して不溶性不純物を除去した。

一方、分画分子量値5,000の限外濾過膜を装着した限外濾過器に上記糖化液を供給した後、4 kg/cm² Gの加圧状態下に室温で処理してデキストリン等を分別除去した。得られた透過液にその固形分当り活性炭を0.1%加えて脱色濾過し、更に1

1.44

オン交換樹脂 IR-200, 同 IRA 411 (オルガノ樹脂) で順次精製した後, 減圧濃縮した。これにより極めて高純度のマルトース溶液 (固形分濃度 50 %, 固形分中マルトース 99.8 %) 45 g を得た。

実施例 3

20 % のコーンスターチ懸濁液 6.000 g に液化酵素 (大和化成製) を 0.5 g 加え, pH 6.5 に調整し, 約 90 °C で 15 分間液化した後, 125 °C で 10 分間オートクレーブで加熱して, DE 0.9 の液化液を得た。この液化液に大豆から抽出した β -アミラーゼを澱粉 g 当り 2 単位添加して, pH 5.5, 温度 60 °C の条件下に 40 時間保持して糖化した。糖化液は一度加熱した後ろ過した。

次にこの糖化液を固形分濃度 10 % に調整し, 分画分子量値 10,000 の膜で処理した後, 再度実施例 1 で使用したと同じ膜で同様に処理してオリゴ糖およびデキストリンの分別除去を行なった。膜を透過した高純度のマルトース液に固形分当り

度 55 °C の条件下に 4.8 時間保つて糖化した。この糖化液に活性炭を固形分当り 0.5 % 加えて脱色し, 更にイオン交換樹脂 IR-200, 同 IRA 411 で精製した後, 減圧濃縮することにより, ぶどう糖溶液 (固形分濃度 50 %, DE 96.1) 1,150 g を得た。

特許出願人 東海糖業株式会社

同代理人 久高将信

特開昭51-101141(4)

活性炭を 0.1 % 加えて脱色ろ過し, 更にイオン交換樹脂 IR-200, 同 IRA 910 で順次精製した後, 減圧濃縮した。この濃縮液を含水結晶ぶどう糖の製造法に準じて処理して結晶マルトースを製造した。すなわち, アツペ型屈折計で屈折率 1.47 ま で減圧濃縮して得たマルトース純度 99.2 % の濃縮液 750 g を小型のクリスタライザーに投入し, 品温が 60 °C になつた時点で種結晶を固形分に対して 0.1 % 添加し, 徐冷しながら 50 時間結晶化を行なつた後, 遠心分離して結晶マルトース 260 g と固形分濃度 57 % の分離液 460 g とを得た。

一方, 上記で膜処理を行なうことによつて得たオリゴ糖およびデキストリンの区分は, 再度 125 °C で 10 分間オートクレーブで加熱した後, 液化酵素を固形分 g 当り 4 単位添加して, pH 6.0, 温度 93 °C の条件下で 20 分間作用させて液化し, 更にこれにグルコアミラーゼ (新日本化学工業製) を固形分 g 当り 5 単位添加して, pH 5.0, 温

5. 添付書類の目録

- | | |
|----------|-----|
| (1) 願書副本 | 1 通 |
| (2) 明細書 | 1 通 |
| (3) 委任状 | 1 通 |

6. 前記以外の発明者

三重県鈴鹿市磯山浜新田 2580-16 番地

花谷俊信

三重県鈴鹿市北堀江町 202-38 番地

山田 覚